



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 290 663 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1  
Patentgesetz der DDR  
vom 27.10.1983  
in Übereinstimmung mit den entsprechenden  
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 12 P 7/62

## DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD C 12 P / 336 252 3

(22) 22.12.89

(44) 06.06.91

(71) VE Forschungszentrum Biotechnologie Berlin, Alt Stralau 62, O - 1017 Berlin, DE

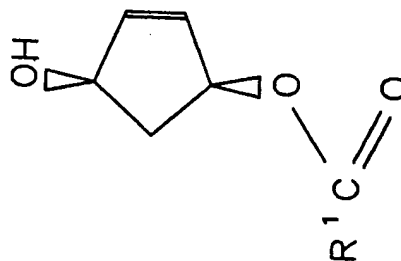
(72) Merker, Steffen, Dipl.-Biochem., DE; Böhme, Monika, Dr. Dipl.-Chem., DE; Knoll, Alexander, Dr. Dipl.-Chem., SU; Theil, Fritz, Dr. Dipl.-Chem., DE

(73) VE Forschungszentrum Biotechnologie Berlin, O - 1017 Berlin; Zentralinstitut für Organische Chemie der Akademie der Wissenschaften, O - 1199 Berlin, DE

(54) Verfahren zur Herstellung von (1S, 4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen

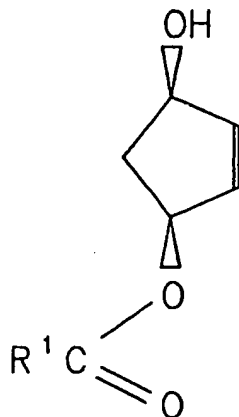
(55) Herstellung; stereoselektive Synthese; enzymkatalysierte Veresterung; (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene; cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en; Carbonsäureanhydrid; organische Lösungsmittel; optisch aktive Prostaglandine; Lipase; Schweinepankreas-Lipase; Pankreatin; Enantiomerenreinheit  
(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I), in der R<sup>1</sup> Wasserstoff; Alkyl oder Aryl bedeutet. Diese Verbindungen dienen als Ausgangsmaterial für die Synthese optisch aktiver Prostaglandine und Prostaglandinderivate sowie für die Synthese cyclopentanoider Naturstoffe und deren Abkömmlinge. Erfindungsgemäß werden (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene durch enzymkatalysierte Veresterung von cis-1,4-Dihydroxy-cyclopent-2-en (II) mit Carbonsäureanhydriden der allgemeinen Formel (III) in organischen Lösungsmitteln hergestellt, wobei trotz Verzicht auf einen basischen Zusatzkatalysator die Reaktionsgeschwindigkeit der Veresterung unter ansonsten gleichen Bedingungen höher liegt als bei bekannten Verfahren zur enzymatischen Veresterung. Die gewünschten Produkte liegen in hohem Enantiomerenüberschuß vor. Formel (I)

(I)



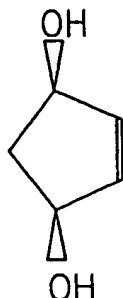
**Patentansprüche:**

1. Verfahren zur Herstellung von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (II)



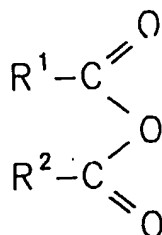
(II)

in der R¹ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl bedeutet, dadurch gekennzeichnet, daß sich cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en der Formel (III)



(III)

mit Carbonsäureanhydriden der allgemeinen Formel (III),



(III)

in der R¹ und R² gleich oder verschiedenen Wasserstoff, Alkyl oder Aryl bedeuten, in einem organischen Lösungsmittel mit einem Wassergehalt zwischen 0 und 20 Vol.-% in Gegenwart einer Lipase oder eines lipasehaltigen Präparates bei Temperaturen zwischen 0 und 80°C umgesetzt wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Carbonsäureanhydrid ein aliphatisches Carbonsäureanhydrid mit R¹ und R² lt. allgemeiner Formel (III) gleich Wasserstoff oder gleich C₁ bis C₆ verwendet wird.
3. Verfahren nach Ansprüchen 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, daß keine Base zugesetzt wird.
4. Verfahren nach Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß als Lipase eine Lipase tierischen, pflanzlichen oder mikrobiellen Ursprunges bzw. als lipasehaltiges Präparat ein lipasehaltiges Präparat tierischen, pflanzlichen oder mikrobiellen Ursprunges verwendet wird.
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß als Lipase tierischen Ursprunges rohe Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin verwendet wird.

6. Verfahren nach Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß als organisches Lösungsmittel ein organisches Lösungsmittel mit einem Wassergehalt zwischen 0 und 5 Vol.-%, insbesondere ein wassermischbares organisches Lösungsmittel, verwendet wird.
7. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß als organisches Lösungsmittel insbesondere Tetrahydrofuran oder 1,4-Dioxan, aber auch Diethylether oder Toluol verwendet wird.
8. Verfahren nach Anspruch 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Umsetzung bei einer Temperatur zwischen 5 und 35°C erfolgt.

#### Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I), in der R<sup>1</sup> Wasserstoff, Alkyl oder Aryl bedeutet. Der Verbindungstyp der allgemeinen Formel (I) ist Ausgangsmaterial für die Synthese optisch aktiver Prostaglandine und Prostaglandinderivate, die zur Verhütung und Behandlung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, für gynäkologische Indikationen, zur Verhütung und Behandlung von Magen- und Darmgeschwüren in der Humanmedizin sowie zur Geburten- und Brunstsynchronisation in der Tierproduktion verwendbar sind sowie für die Synthese cyclopentanoider Naturstoffe und deren Abkömmlinge.

#### Charakteristik des bekannten Standes der Technik

(1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene der allgemeinen Formel (I) waren bisher zugänglich durch asymmetrische enzymkatalysierte Hydrolyse der meso-Verbindungen cis-1,4-Diacyloxy-cyclopent-2-ene mittels Mikroorganismen bzw. isolierter Enzyme verschiedener Herkunft (DE-AS 2552871; S. Takano, K. Tanigawa, K. Ogasawara; J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1976 189; JP 78/005140; S. Miura, S. Kurozumi, T. Toru, T. Tanaka, M. Kobayashi, S. Matsubara, S. Ishimoto; Tetrahedron 32, 1893 [1976]; DE-OS 3439598; K. Laumen, M. Schneider; Tetrahedron Lett. 25, 6875 [1984]; Y.-F. Wang, C.-S. Chen, G. Girdaukas, C.-J. Sih; J. Am. Chem. Soc. 106 [1984] 3695; K. Laumen, E. H. Reimerdes, M. Schneider; Tetrahedron Lett. 26, 407 [1985]; DE-OS 3620846; DD-WP 273448). Der Enantiomerenüberschuß bei diesen Reaktionen beträgt zwischen 4 und 95%. Mit Ausnahme des in DE-OS 3620846 vorgeschlagenen Verfahrens liegen die optischen Reinheiten bei maximal 74%, d. h., zum Erhalt eines Produktes mit einem Enantiomerenüberschuß > 95% muß sich eine Reinigung anschließen, die zwangsläufig mit erheblichen Substanzverlust verbunden ist.

Bestimmte Enzyme, z. B. die Acetylcholinesterase des Zitteraals oder bestimmte Lipasen, liefern (1R,4S)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene (D. R. Daardoff, A. J. Matthews, D. S. McMeekin, C. L. Craney; Tetrahedron Lett. 27, 1255 [1986]; K. Laumen, M. P. Schneider, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1986, 1298; T. Sugai, K. Mori; Synthesis 1988, 19), d. h. die optischen Antipoden von (I).

Zur Umwandlung von (1R,4S)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-en in (1S,4R)-1-Tetrahydropyranyloxy-4-hydroxycyclopent-2-en, eine Verbindung, die analog der Verbindung der allgemeinen Formel (I) in die Reihe der natürlichen Prostaglandine führt, sind dann noch zwei weitere Synthesestufen erforderlich.

Alle diese enantioselektiven Hydrolysen verlaufen im wässrigen Medium. Das hat den Nachteil, daß es zu Problemen hinsichtlich Löslichkeit des Substrates und bei der Isolierung der Produkte kommen kann.

1987 wurde die Synthese von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I) durch enzymkatalysierte Umesterung von cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-enen mit Carbonsäureestern in Gegenwart einer Base in organischen Lösungsmitteln beschrieben (Theil, F.; Bellschul, S.; Schick, H.; Häfner, B.; Haupt, M.; Palme, H.-J.; Schwarz, S.; 1987, DD-WP 284707). Dieses Verfahren liefert die Verbindungen der allgemeinen Formel (I) in befriedigender chemischer Ausbeute und mit einem hohen Enantiomerenüberschuß.

Eine Umesterung ist aber von Natur aus ein Gleichgewichtsprozeß. Das zwingt zum Einsatz eines erheblichen Überschusses an Acylierungsmittel.

Bei einem solchen Gleichgewichtsprozeß sinkt die Geschwindigkeit der Produktbildung durch die im Laufe der Reaktion mit Anwachsen der Produktkonzentration ständig steigende Geschwindigkeit der Rückreaktion.

Der Einsatz von aktivierten Estern beschleunigt diese Umesterung zwar, verursacht aber wesentlich höhere Kosten für den Ausgangsstoff.

Außerdem erscheint der Einsatz der Base als zweiten Katalysator, der für die Umesterung als essentiell beschrieben wird, kritikwürdig.

Daher wurde nach einem Acylierungsmittel gesucht, das diese genannten Nachteile umgeht.

Carbonsäureanhydride sind Grundchemikalien und werden gewöhnlich u. a. für die unselektive chemische Acylierung von Hydroxygruppen in organischen Lösungsmitteln verwendet.

Schweinepankreaslipase, als Lipasepräparat wegen seiner geringen Kosten bevorzugt (T. Sugai, K. Mori; Synthesis 1988, 19; K. Laumen, M. P. Schneider; J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1986, 1298) wird für die Acylierung mit Carbonsäureanhydriden wegen zu geringer Aktivität bzw. zu geringer Enantioselektivität als ungeeignet beschrieben (Bianchi, D., Cesti, P., Battistel, E., 1988, J. Org. Chem. 53, 5531).

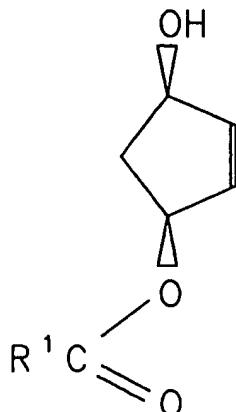
Betreffs des Lösungsmittels wird in der Fachliteratur die Aussage getroffen, daß die unpolareren bzw. wasserunmischbaren Lösungsmittel für enzymatische Reaktionen im organischen Milieu besser geeignet sind (Yu. L. Khmelitsky, A. Levaashov, N. Kiyachkin; Enzyme Microb. Technol. 10, 1988, 710 und ebenda dazu zitierte Literatur). Beim Einsatz von Carbonsäureanhydriden als Acylierungsmittel für esterasekatalysierte Acylierungen in organischen Lösungsmitteln werden ebenfalls die wasserunmischbaren Lösungsmittel als die günstigeren beschrieben (T. Suzuki, K. Ohta, F. Kikumoto, EP 0 269 453).

# **Ziel der Erfindung**

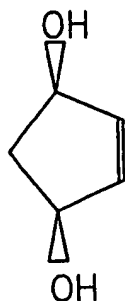
Das Ziel der Erfindung besteht darin, die enantioselektive Synthese von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I) aus cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en in einem ökonomischen Verfahren, das eine befriedigende chemische Ausbeute und einen hohen Enantiomerenüberschuß garantiert, auszuführen.

## **Darlegung des Wesens der Erfindung**

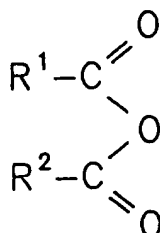
Aufgabe der Erfindung ist es, ein Verfahren zur Herstellung von (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I)



In der R¹ Wasserstoff, Alkyl oder Aryl bedeutet, durch enzymkatalysierte Veresterung in organischen Lösungsmitteln mit einem ökonomischen Acylierungsmittel nicht-esterischen Charakters und ohne den Einsatz einer Base als katalytischen Zusatz zu finden, in dem die enzymatische Veresterung des cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-ens zu entsprechenden (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I) bei ansonsten analogen Bedingungen schneller verläuft als bei bekannten Verfahren. Diese Aufgabe wird gelöst, indem erfindungsgemäß die meso-Verbindung cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en der Formel (II)



(G.O. Schenck, D.E. Dunlap; Angew. Chemie 68, 248 [1956]; C. Kaneko, A. Sugimoto, S. Tanaka; Synthesis 1974, 876) mit Carbonsäureanhydriden der allgemeinen Formel (III)



In der R¹ und R² gleich oder verschieden Wasserstoff, Alkyl oder Aryl bedeuten, vorzugsweise mit aliphatischen Carbonsäureanhydriden mit R¹ und R² lt. allgemeiner Formel (III) gleich Wasserstoff oder gleich C₁ bis C₆, in einem organischen Lösungsmittel mit einem Wassergehalt zwischen 0 und 20 Vol.-%, vorzugsweise zwischen 0 und 5 Vol.-%, insbesondere einem wassermischbaren organischen Lösungsmittel wie Tetrahydrofuran oder 1,4-Dioxan, aber auch Diethylether oder Toluol in

Gegenwart einer Lipase tierischen, pflanzlichen oder mikrobiellen Ursprunges oder einem lipasehaltigen Präparat tierischen, pflanzlichen oder mikrobiellen Ursprunges in freier oder immobilisierter Form, vorzugsweise von roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin, bei Temperaturen zwischen 0 und 80°C, vorzugsweise zwischen 5 und 35°C, umgesetzt wird.

Überraschenderweise werden bei dieser Verfahrensführung (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-ene der allgemeinen Formel (I) mit einem hohen Enantiomerenüberschuß und in befriedigender chemischer Ausbeute erhalten.

Entgegen von Aussagen der Fachliteratur, wonach die polaren bzw. wasserunmischbaren Lösungsmittel für enzymatische Reaktionen in organischen Milieu besser geeignet sind (Yu. L. Khmel'nitsky, A. Levashov, N. Klyachko, *Enzyme Microb. Technol.* 10, 1988, 710 und ebenda dazu zitierte Literatur), erwiesen sich für die Umsetzung besonders solche wassermischbaren Lösungsmittel wie THF und Dioxan, bedingt auch Diethylether und Toluol als geeignet.

Die große Enantioselektivität von Schweinepankreaslipase im gereinigten wie auch im Rohzustand in Form des Präparates Pankreatin, die für die Acylierung mit Carbonsäureanhydriden wegen zu geringer Aktivität bzw. zu geringer Enantioselektivität als ungeeignet beschrieben wurde (D. Bianchi, P. Costi, E. Battistel; 1988, *J. Org. Chem.* 53, 5531), war besonders überraschend. Vorteilhaft ist weiterhin, daß die für die Umesterung als essentiell beschriebene Base (Theil, F., et al., DD-WP 264707) erfindungsgemäß nicht eingesetzt wird und daß die Reaktionsgeschwindigkeit der Umsetzung von cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en der Formel (II) zu (1S,4R)-1-Acyloxy-4-hydroxycyclopent-2-enen der allgemeinen Formel (I) in der erfindungsgemäßen Verfahrensweise ohne Basenzusatz unter ansonsten analogen Bedingungen sogar höher liegt als beim Verfahren nach (Theil, F., et al., DD-WP 264707) mit Basenzusatz.

#### Ausführungsbeispiele

Die Erfindung soll an Hand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden, ohne sie zu beschränken.

##### Beispiel 1

Eine Lösung von 1 g (10 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 5 ml Essigsäureanhydrid in 25 ml absolutem Tetrahydrofuran wird bei 20°C mit 5 g roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin versetzt und bis zum Erreichen eines Enantiomerenüberschusses von 96% bei einer Temperatur von 20°C gerührt. Danach wird die Suspension filtriert und der Filtrerrückstand mit Ethylacetat gewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum eingedunstet. Der Rückstand wird in wäßriger Natriumhydrogencarbonatlösung aufgenommen, aus der durch mehrfache oder kontinuierliche Extraktion in Ethylacetat oder ein anderes geeignetes Lösungsmittel die Produkte extrahiert werden. Die Ethylacetatlösung der Produkte wird im Vakuum eingedunstet. Der Rückstand wird durch Flash-Chromatographie oder einfache Filtration über Kieselgel gereinigt. Man erhält 620 mg (44%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I mit R<sup>1</sup> gleich CH<sub>3</sub> als farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 46°C bis 48°C.

Enantiomerenüberschuß: e. e. 96%

Man erhält außerdem 850 mg (46%) cis-1,4-Diacetoxycyclopent-2-en, die nach Entacetylierung erneut zur Veresterung eingesetzt werden können.

##### Beispiel 2

Eine Lösung von 0,1 g (1 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 0,5 ml Essigsäureanhydrid in 2,5 ml absolutem Tetrahydrofuran wird bei 20°C mit 0,1 g Schweinepankreas-Lipase (SERVA) versetzt und 8 Stunden bei einer Temperatur von 20°C gerührt. Eine Aufarbeitung analog Beispiel 1 liefert 54 mg (38%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I. Enantiomerenüberschuß: e. e. 94%

##### Beispiel 3

Eine Lösung von 60 mg (0,6 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 0,3 ml Essigsäureanhydrid in 1,5 ml Tetrahydrofuran (Wassergehalt: 5%) wird bei 20°C mit 100 mg *Pseudomonas* sp. Lipase versetzt und 24 Stunden bei einer Temperatur von 20°C gerührt.

Eine Aufarbeitung analog Beispiel 1 liefert 26 mg (30%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I. Enantiomerenüberschuß: e. e. 30%

##### Beispiel 4

Eine Lösung von 0,1 g (1 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 0,5 ml Essigsäureanhydrid in 2,5 ml absolutem Dioxan wird bei 20°C mit 400 mg roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin versetzt und 10 Stunden bei einer Temperatur von 20°C gerührt.

Eine Aufarbeitung analog Beispiel 1 liefert 58 mg (41%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I. Enantiomerenüberschuß: e. e. 83%

##### Beispiel 5

Eine Lösung von 60 mg (0,6 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 0,3 ml Essigsäureanhydrid in 1,5 ml Diethylether (Wassergehalt: 10%) wird bei 20°C mit 200 mg roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin versetzt und 10 Stunden bei einer Temperatur von 20°C gerührt.

Eine Aufarbeitung analog Beispiel 1 liefert 33 mg (39%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I. Enantiomerenüberschuß: e. e. 37%

**Beispiel 8**

Eine Lösung von 60 mg (0,6 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 0,3 ml Essigsäureanhydrid in 1,5 ml Tetrahydrofuran wird bei 7°C mit 200 mg roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin versetzt und 30 Stunden bei einer Temperatur von 7°C gerührt.

Eine Aufarbeitung analog Beispiel 1 liefert 38 mg (44%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I.  
Enantiomerenüberschuß: e.e. 94%

**Beispiel 7**

Eine Lösung von 80 mg (0,6 mmol) cis-1,4-Dihydroxycyclopent-2-en II, 0,3 ml Essigsäureanhydrid in 1,5 ml absolutem Tetrahydrofuran wird bei 35°C mit 200 mg roher Schweinepankreas-Lipase in Form des Präparates Pankreatin versetzt und 18 Stunden bei einer Temperatur von 35°C gerührt.

Eine Aufarbeitung analog Beispiel 1 liefert 31 mg (36%) (1S,4R)-1-Acetoxy-4-hydroxycyclopent-2-en der Formel I.  
Enantiomerenüberschuß: e.e. 64%